

氏名	吉 田 修
学位の種類	博 士 (医 学)
学位記番号	乙 第 3316 号
学位授与年月日	平成 9 年 3 月 24 日
学位授与の要件	学位規則第 4 条第 2 項該当者
学位論文名	ヒト骨芽細胞様細胞MG-63における高濃度グルコース暴露による骨芽細胞機能の抑制
論文審査委員	主 査 教 授 森井 浩世    副主査 教 授 山野 慶樹 副主査 教 授 大谷 周造

### 論 文 内 容 の 要 旨

〈目的〉糖尿病性骨減少症の発症機序はまだ十分解明されていないが、骨芽細胞の障害による骨形成の低下が主な原因と考えられている。そこで今回、持続的高濃度グルコースの骨芽細胞機能に及ぼす影響を検討した。

〈方法〉正常濃度グルコース (NG) の培養液に加え、糖尿病状態として高濃度グルコース (HG) の培養液でヒト骨芽細胞様細胞MG-63を 1 週間培養し、骨代謝の主要ホルモンである1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> (1,25D<sub>3</sub>) およびヒト副甲状腺ホルモン (1-34) (hPTH (1-34)) を加えその反応性を見ることにより高濃度グルコースの骨芽細胞への影響を検討した。またHG群の浸透圧コントロールとして高濃度マニトール (HM) の影響を検討した。1,25D<sub>3</sub>およびhPTH (1-34) に対する反応としてそれぞれ培養液中オステオカルシン (OC) 濃度および細胞内cAMP濃度、細胞内Caイオン濃度を測定した。

〈結果および考察〉7日間培養後1,25D<sub>3</sub>を添加し更に2日間後にMG-63細胞のオステオカルシン (OC) 分泌反応をみると、NG群と比較してHG群での反応は有意に低下していた。この低下はHM群では認められずHG群に特異的なものと考えられた。1,25D<sub>3</sub>レセプター量を検討した結果、HG群のみで明らかなレセプター量の減少が認められ、HG群でのOC分泌の低下は1,25D<sub>3</sub>レセプター量の減少によると考えられた。

非刺激時の細胞内cAMP濃度およびcAMP依存性蛋白質磷酸化酵素 (PKA) の活性化率はHG群で有意の上昇が認められたが、hPTH (1-34) による反応を見ると、cAMP濃度およびCaイオン濃度ともにNG群、HM群と比べHG群で有意に低下していた。細胞内cAMP濃度が副甲状腺ホルモンレセプターのdown-regulation, あるいは副甲状腺ホルモン刺激に対する脱感作をきたすことが知られていることから、HG群のhPTH (1-34) に対する反応低下は、cAMP濃度の基礎値の上昇による可能性が考えられた。

〈結論〉持続的高濃度グルコースの条件では骨芽細胞の1,25D<sub>3</sub>およびhPTH (1-34) による反応性が低下していることが示された。本研究により、高血糖自体による骨芽細胞機能の障害が、糖尿病性骨減少症の発症に関与しているものと考えられた。

### 論 文 審 査 の 結 果 の 要 旨

糖尿病では合併症として骨減少症が生ずるが、そのメカニズムは十分に解明されていない。骨代謝の面では骨形成と骨吸収がどのように影響されるかが問題である。本研究においては骨芽細胞の機能が高血糖環境においてどのように変化するかを検討した。

骨芽細胞としてはヒト骨芽細胞様細胞MG-63を用いた。MG-63細胞を正常濃度グルコース群 (5.5mM グルコース)、高濃度グルコース群 (55.0mMグルコース)、高濃度マニトール群 (5.5mMグルコース+49.5

mMマニトール)の3群に分け各培養液に7日間培養した後、1,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> (1,25D<sub>3</sub>)またはヒト副甲状腺ホルモン (1-34) [hPTH (1-34)] を添加した。1,25D<sub>3</sub>を添加後、成熟骨芽細胞によって産生されるオステオカルシン、オステオカルシンmRNAを測定した。また1,25D<sub>3</sub>受容体量を測定した。hPTH (1-34) 添加時には培養液中のcAMP濃度、細胞内イオン化カルシウムを測定した。

次の結果がえられた。

1. 1,25D<sub>3</sub>添加後の培養液中オステオカルシン濃度はいずれの培養液においても1,25D<sub>3</sub>濃度依存性が増加したが高濃度グルコース群においてほかの2群に比較して低値をしめした。オステオカルシンmRNAは1,25D<sub>3</sub>添加後、3、6、9時間後のいずれにおいても高濃度グルコース群において低値であった。
2. 1,25D<sub>3</sub>受容体量は高濃度グルコース群において減少していた。
3. 非刺激時の細胞内cAMP濃度は高濃度グルコース群において高値であった。しかしhPTH (1-34) 添加後のcAMP濃度は高濃度グルコース群において最も低いものであった。
4. hPTH (1-34) 添加後の細胞内イオン化カルシウムの増加は高濃度グルコース群において最も低いものであった。

以上の実験結果から骨芽細胞においては高濃度グルコース環境において1,25D<sub>3</sub>受容体の減少があり、そのために1,25D<sub>3</sub>に対する反応が低下している。hPTH (1-34) に対するcAMPの反応も高濃度グルコース環境で低下している。すなわち糖尿病においては高血糖状態において骨形成が低下している可能性があり、骨減少症の一因と考えられた。

本研究は糖尿病における骨カルシウム代謝の研究に一定の寄与をなすものとして博士(医学)の学位を授与するに値するものと認められた。